

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07052

研究課題名(和文)げっ歯類を用いた幻聴の神経メカニズムの研究

研究課題名(英文) Investigation into neural mechanisms of auditory hallucinations using rodents.

研究代表者

松本 惇平 (Matsumoto, Jumpei)

富山大学・学術研究部医学系・助教

研究者番号：00635287

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症の幻聴は、自己の内的な発声を他者由来と誤認することが原因で起こると考えられている。しかし正常な脳において自己/他者の声が区別される過程や、統合失調症におけるその障害の詳しい神経メカニズムは明らかでない。本研究では、ラットを用いて、まず、聴覚野と扁桃体における自己および他者の鳴声に対する応答性を明らかにした。次に、ヒトで統合失調症様の幻聴を引き起こすことが知られているメタンフェタミン投与による応答性の変化を調べた。その結果、メタンフェタミン投与により聴覚野の自己の鳴声への応答が特異的に増強されることが判明し、聴覚野における自他の声の識別機構の障害が幻聴に関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

幻聴は内的な体験であり、言語を持たない動物ではその神経メカニズムを研究することがこれまで困難であった。本研究で開発した実験手法や得られた実験結果は、動物を用いた幻聴の詳しい神経メカニズムの研究の基礎となり、今後統合失調症の治療法の開発などに大いに貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Auditory hallucinations in schizophrenia are suggested to be produced by misidentification of inner speech as external voices. However, detailed neural mechanisms underlying discrimination of self/other voices and its impairment in schizophrenia are unknown. In this study, we first investigated neural response to own and other's vocalizations in the amygdala and the auditory cortex in rats. Then, we tested effects of methamphetamine administration, which causes auditory hallucinations in humans, on neural responses to vocalizations. The results indicated that methamphetamine specifically enhanced responses to own vocalizations, suggesting that this enhancement might be involved in impaired self/other distinction in the auditory cortex and auditory hallucination. The present results and the experimental paradigms should be useful to future studies to clarify neural mechanisms of auditory hallucinations using animals and contribute to development of treatments for schizophrenia.

研究分野：神経科学

キーワード：聴覚系 随伴発射 ラット 超音波発声

1. 研究開始当初の背景

その場に存在しない他者の声が聞こえる幻聴は統合失調症の陽性症状で最も特徴的な症状である。幻聴の原因は、自己の内的な発声を他者の声と混同してしまう、自己意識の障害であると考えられている(Johns et al., 2006)。しかし正常な脳において自己/他者の声が区別される過程や、統合失調症におけるその障害の詳しい神経メカニズムは明らかでない。

これまでの研究で我々は超音波 (50 kHz 帯)で音声コミュニケーションを行うラットを用いて、自己および他者の鳴声に対する扁桃体のニューロン応答を調べた(Matsumoto et al., 2016)。その結果、ほとんどのニューロンが自己の鳴声には応答せず、他者の鳴声に対してのみ応答することが明らかになった。また、扁桃体に音声情報を送る聴覚野でも自己および他者の声に対して識別的に応答するニューロンが存在すること報告されている(Eliades and Wang, 2003)。以上から、これらの領域における自他の識別障害により、幻聴が起こることが示唆される。しかし、これらの領域における応答性を比較した研究や統合失調症モデル動物における応答性の異常を調べる研究はこれまでになかった。

2. 研究の目的

本研究ではラットを用いて、

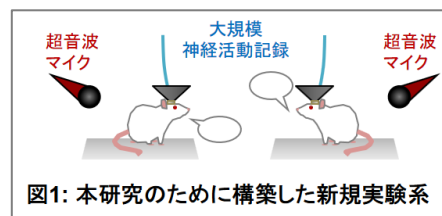
- ① 扁桃体および聴覚野から神経活動を同時記録し、これらの領域における自他の鳴声の処理様式を調べる。
- ② 統合失調症様の幻聴を引き起こすことが知られているメタンフェタミンの投与によって、自他の鳴声の処理様式の変化を調べる。
- ③ 扁桃体や聴覚野の応答異常によって、幻聴のような存在しない他者の声の知覚が生じ得るのかを、神経細胞活動の光操作によって検証する。

以上によって、自他の声の識別の神経メカニズムとその幻聴における異常を明らかにすることを目指す。

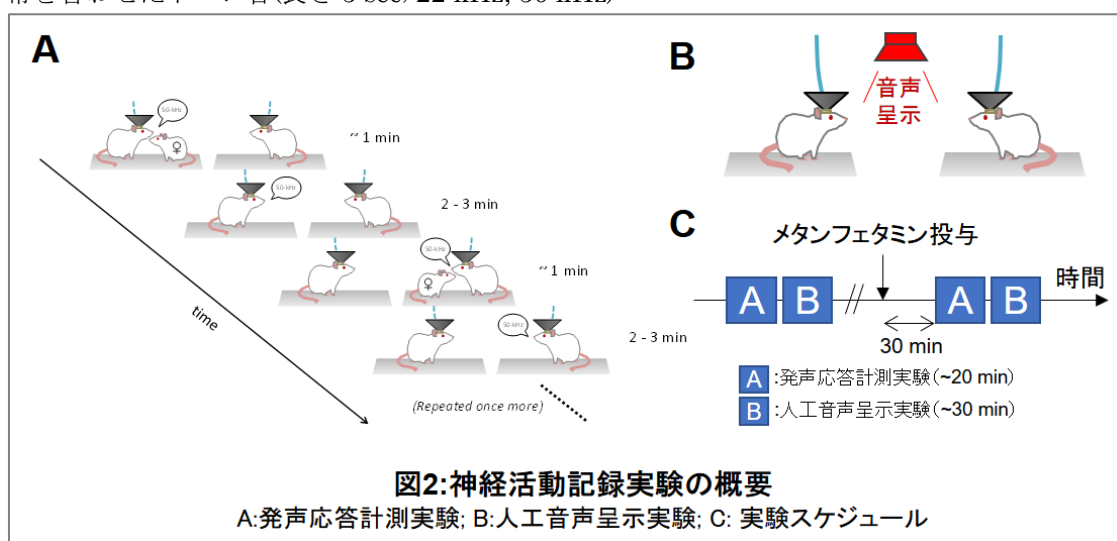
3. 研究の方法

(1) 神経活動記録実験

自他の鳴声に対する多数の脳領域の神経応答を同時計測するため、多領域大規模記録技術と超音波マイクアレイによる音源定位技術を組み合わせた新規実験系(図1)を構築し、同実験系を用いて各領域の神経応答の特性とメタンフェタミン投与によるその変化を調べた。



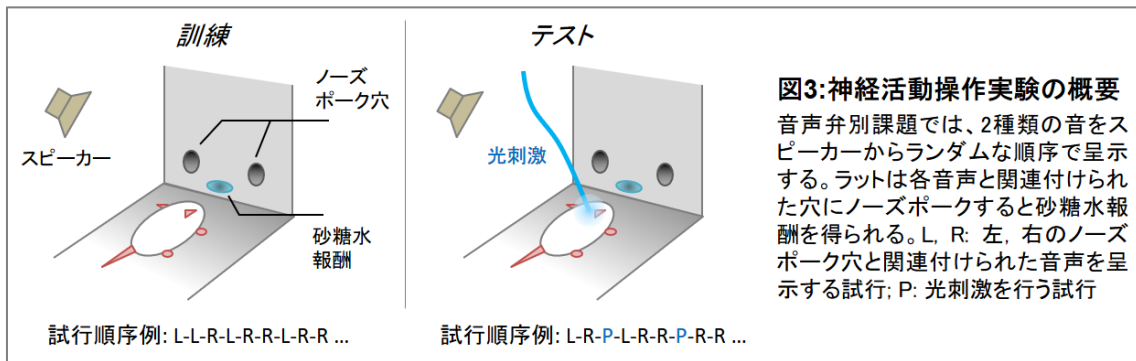
被験体にはオスの Wistar ラットを使用した。記録実験は2匹の被験オスにメスを交互に呈示して発声を促すことで自他の鳴声に対する神経応答を計測する発声応答計測実験(図2A)とスピーカーから種々の録音音声を呈示して神経応答を計測する人工音声呈示実験(図2B)の2種類からなる。それぞれの実験はメタンフェタミン投与を挟んで2回繰り返した(図2C)。人工音声呈示実験では、ホワイトノイズ(長さ100 msec)、トーン音(長さ100 msec; 5, 7, 10, 14, 20, 28, 40, 57, 80 kHz)、鳴声の録音音声(50-kHz call, 22-kHz call; 長さ約5秒)、鳴声音声に長さと同周波数帯を合わせたトーン音(長さ5 sec; 22 kHz, 50 kHz)



(2) 神経活動操作実験

扁桃体や聴覚野の神経活動と鳴声の知覚との因果関係を、音声弁別課題中に鳴声を表象する神経細胞を人為的に興奮させることによって調べる。具体的には、まず c-fos タグging法(Choi et al., 2018)によって、鳴声呈示中に活動した神経細胞に特異的にチャンネルロドプシン2 (ChR2, 光刺激によって神経細胞を興奮させるイオンチャンネル)を発現させる。次に呈示された音声か、鳴声かトーン音かを識別させる音声弁別課題(図3)をラットに学習させる。最後に、音声弁別課

題中に光刺激を行い、鳴声を表象する神経細胞を人為的に興奮させる実験を行う。神経細胞の興奮によって、音声呈示がない期間でも鳴声呈示時と同様の行動反応が起こるか、すなわち、実在しない鳴声の知覚が生じているかを解析する。

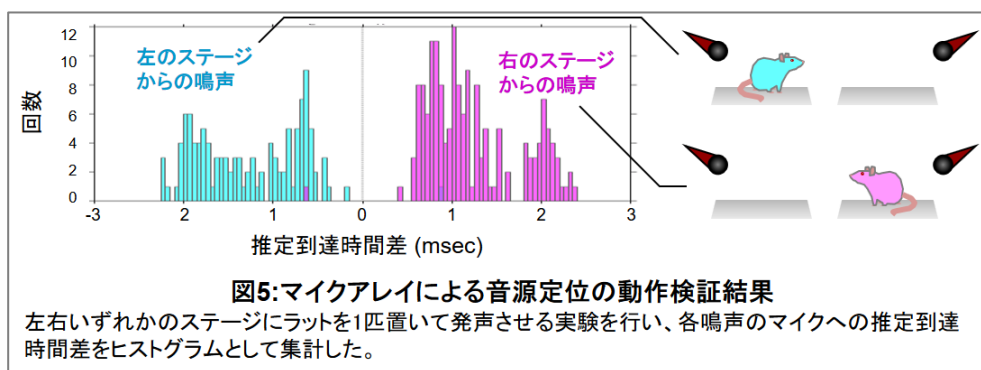
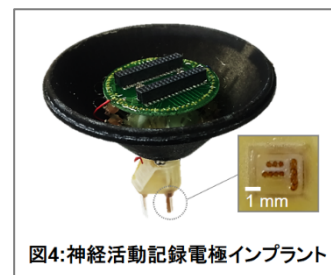


4. 研究成果

(1) 神経活動記録実験

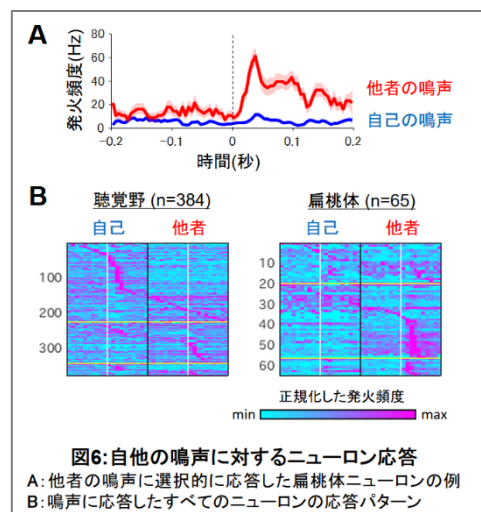
1-a. 自他の鳴声に対する神経応答計測のための新規実験系の構築

まず、多領域の正確な位置から神経活動を同時記録することが可能な3Dプリントによる電極インプラントを設計・構築した(図4)。電極インプラントは、過去の研究(Kloosterman et al., 2009)で提案されたデザインをもとに、距離の離れた多数の領域から正確に神経活動を計測するため、電極先端部に独自の改良を加えた。また、自他の鳴声に対する応答を解析するには、各鳴声が2匹のラットのどちらから発せられたものなのかを判定する必要がある。これまでの我々の研究(Matsumoto et al., 2016)では喉頭部の筋電図の同時記録によって発声個体を判別していたが、頸部が動くことによって埋め込んだ電極が外れやすく長期の記録が困難である事や、筋の活動が鳴声と完全に一致しない(嚙下などでも活動する; 声の種類によっては活動が弱い)ことから、効率の良いデータ収集が困難であった。そこで、2本の超音波マイクからなるマイクアレイを用いて音源定位を行うことで、非侵襲的に発声個体の判別を行うことができるシステムを独自に開発・構築した。動作検証の結果、一定以上のSN比で収音できた鳴声(すべての鳴声の約30%)に関しては、発声個体を1%未満の誤差で判別できることが確認できた(図5)。

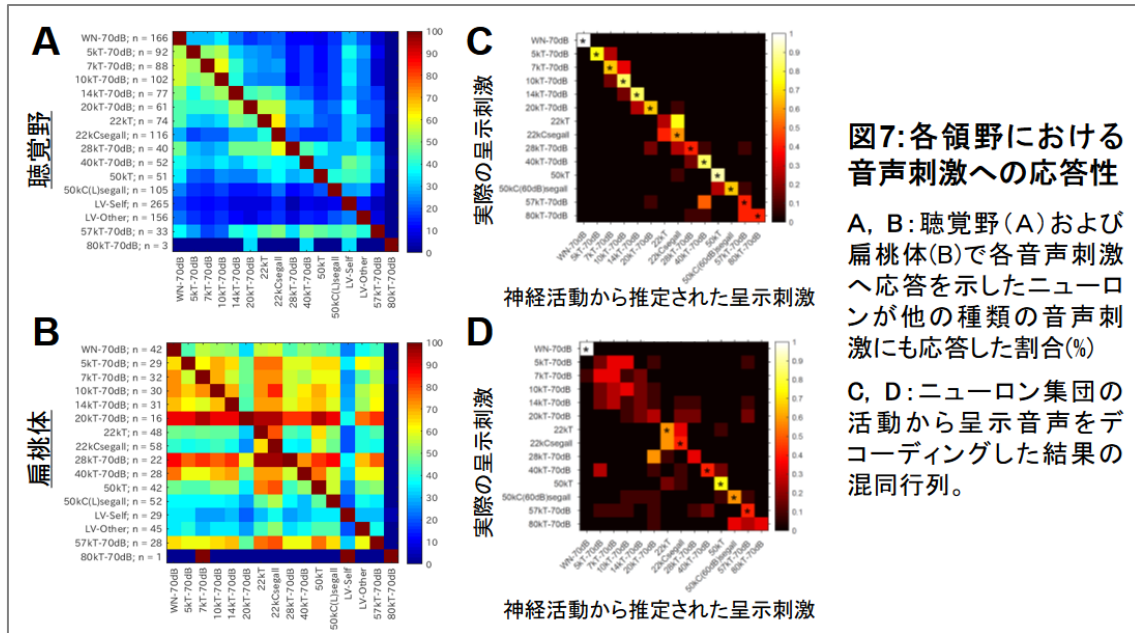


1-b. 自他の鳴声に対する扁桃体及び聴覚野の応答性

上記の実験系を用いて、神経活動記録実験(図2)を行った。合計16匹のラットの聴覚野、扁桃体からそれぞれ1311、556個のニューロンを記録した。この内、自他の鳴声に対して応答したニューロンは聴覚野で384(自己の鳴声に反応: 228; 他者の鳴声に反応: 119; 両者の鳴声に反応: 37)個、扁桃体で65(自己: 20; 他者: 36; 両者: 9)個であった(図6)。どちらの領域でも自他の鳴声に識別的な応答がみられた一方、これまでの研究と一致して扁桃体は自己よりも他者の鳴声により多くのニューロンが応答していた。また、人工音声呈示実験の結果から各ニューロンの音声に対する応答を調べた結果、聴覚野のニューロンは限られた種類の音声にしか応答しなかったが、扁桃体のニューロンは様々な種類の音声に反応した(図7A,B)。一方で、扁桃体においても、ニューロン集団の応答パターンから呈示した音声の種類をデ

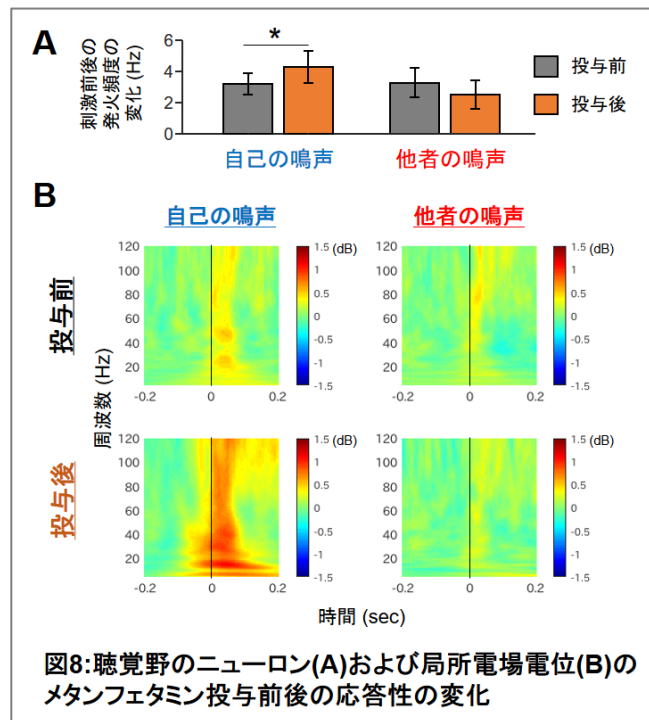


コーディングすることが可能であった(図 7C,D)。以上の結果から、どちらの領域でも自他の鳴声および鳴声と他の音声との識別はされているが、その符号化様式は異なっていることが明らかになった。



1-c. メタンフェタミン投与による自他の鳴声への応答の変化

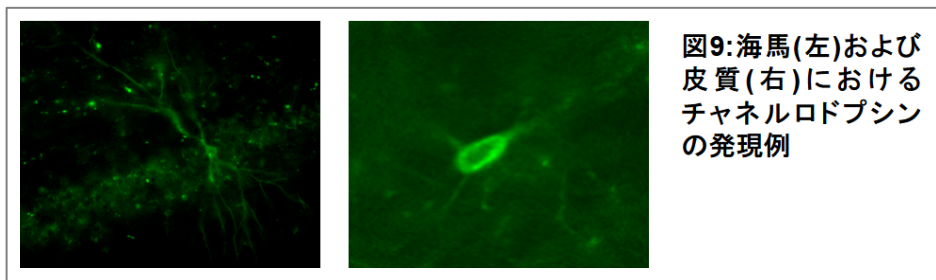
聴覚野と扁桃体でメタンフェタミン投与前後の自他の鳴声に対するニューロン応答を比較したところ、聴覚野において、投与後に自己の鳴声に対する応答の増加がみられた(図 8A)。さらに、同領域の局所電場電位変化を調べると、聴覚野において投与後に自己の鳴声に対する応答の顕著な増加がみられた(図 8B)。これらの変化は生理食塩水投与や他者の鳴声に対しては見られなかった。先行研究(Schneider et al., 2014)では、聴覚野は運動野からの信号(随伴発射)を受けて自己の運動に伴う音声に対する応答を抑制していることが示唆されている。以上から、メタンフェタミンによって、随伴発射の障害が起き、自己の鳴声に対する聴覚野の応答が増強されていることが示唆される。



(2) 神経活動操作実験

2-a. ラットにおける c-fos タギング法の動作検証

神経活動依存的に遺伝子を発現させる c-fos タギング法(Choi et al., 2018)の利用は、マウスでは報告されているが、ラットでの報告は未だない。そこでまず、ラットに同手法が適用可能か動作検証を行った。その結果、海馬及び大脳皮質に AAV-cFos-rtTA, AAV-TRE-Cre, AAV-DIO-ChR2-GFP の 3 種類のウイルス混合液を微小投与したラットにおいて、神経活動(c-fos 発現)依存的にチャンネルロドプシンを発現させられることが確認できた(図 9)。



2-b. 音声弁別課題の設計と訓練による動作検証
次に音声弁別課題に使用する装置を設計・作製した(図 10A)。また、この装置を用いてラットが 2 種類のトーン音を弁別する課題を学習できることを確かめた(図 10B)。

現在は、c-fos タギング法と音声弁別課題を組み合わせ、鳴声を表象する神経細胞の人為的興奮によって音声の呈示なしに鳴声の知覚が生じるか、検証を行っている。

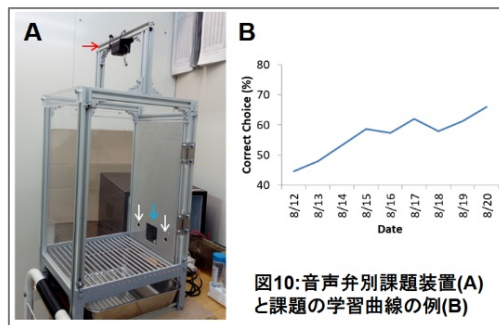


図10:音声弁別課題装置(A)と課題の学習曲線の例(B)

【まとめ】

本研究によって、扁桃体および聴覚野における自他の声の処理様式の違いが明らかになった。また、幻聴を引き起こすことが知られているメタンフェタミンの投与によって聴覚野における声の自他識別が障害されることが示唆された。さらに、これらの領域における神経活動と声の知覚との因果関係を調べるのが可能な新規実験系を構築した。

幻聴は内的な体験であり、言語を持たない動物ではその神経メカニズムを研究することがこれまで困難であった。本研究で開発した実験手法や得られた実験結果は、動物を用いた幻聴の詳しい神経メカニズムの研究の基礎となり、今後統合失調症の治療法の開発などに貢献することが期待される。

参考文献

- Johns et al., 2006, doi: 10.1017/S0033291705006628
Matsumoto et al., 2016, doi:10.3389/fnins.2016.00399
Eliades and Wang, 2003, doi: 10.1152/jn.00627.2002
Choi et al., 2018, doi: 10.1126/science.aas9204
Kloosterman et al., 2009, doi:10.3791/1094
Schneider et al., 2014, doi:10.1038/nature13724

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 松本惇平、シャリフアミール、西丸広史、高村雄策、小野武年、西条寿夫
2. 発表標題 ラット聴覚系の自己発声への神経応答に対するメタンフェタミンの効果
3. 学会等名 第43回 日本神経科学学会大会（国際学会）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本惇平、西丸広史、高村雄策、小野武年、西条寿夫
2. 発表標題 ラット超音波発声の自他の識別メカニズムの神経生理学的研究
3. 学会等名 第42回 日本神経科学学会大会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本惇平
2. 発表標題 ラット超音波発声とモーションキャプチャー
3. 学会等名 新学術領域「個性」創発脳 第1回USVs研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jumpei Matsumoto, Hisao Nishijo
2. 発表標題 Introduction and principles for preparation of tetrodes and 3D motion capture
3. 学会等名 IBRO-APRC School, 2018（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松本惇平、西丸広史、高村雄策、小野武年、西条寿夫
2. 発表標題 ラット超音波発声の自他の識別メカニズムの研究
3. 学会等名 次世代脳冬のシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jumpei Matsumoto, Hiroshi Nishimaru, Yusaku Takamura, Taketoshi Ono, Hisao Nishijo
2. 発表標題 An open-source 3D video based behavioral analysis systems for rodents and monkeys.
3. 学会等名 IBNS (国際行動神経科学会) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Jumpei Matsumoto, Hiroshi Nishimaru, Yusaku Takamura, Taketoshi Ono, Hisao Nishijo
2. 発表標題 Open-source development of a 3D video based behavioral analysis system for laboratory animals.
3. 学会等名 日本神経科学会大会 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松本 惇平
2. 発表標題 統合失調症/自閉症の治療薬と動物モデルの開発
3. 学会等名 フォーラム富山創薬 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 J. Matsumoto, H. Nishimaru, Y. Takamura, K. Mimura, A. Asaba, W. Suzuki, N. Ichinohe, T. Minamimoto, T. Ono, H. Nishijo
2. 発表標題 3D-Tracker, an open-source 3D video based behavioral analysis system for laboratory animals for neuroscience.
3. 学会等名 Neuroscience 2017 (北米神経科学会年会) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松本 惇平、西丸 広史、高村 雄策、三村 喬生、浅場 明莉、鈴木 航、一戸 紀孝、南本 敬史、小野 武年、西条 寿夫
2. 発表標題 Development of an open-source 3D video-based behavioral analysis system for rodents and monkeys and its application to neuroscience
3. 学会等名 生命科学系学会合同年次大会(Conbio 2017) (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

3DTracker (3次元ビデオ行動解析装置) http://3dtracker.org Tetroplater (電極金メッキ装置) https://github.com/MatsumotoJ/Tetroplater
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考